

ビフィズス菌のヒト由来複合糖質代謝に関わる  
新規な糖質加水分解酵素の構造解析  
Crystallography of novel glycosidases from Bifidobacteria  
acting on human glycoconjugates

佐藤真与, 荒川孝俊, 伏信進矢\*

東京大学大学院農学生命科学研究科、〒113-8657 東京都文京区弥生 1-1-1

Mayo Sato, Takatoshi Arakawa and Shinya Fushinobu\*

Department of Biotechnology, The University of Tokyo, 1-1-1 Yayoi, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8657, Japan

## 1 はじめに

腸内細菌の主な生息域である小腸下部から大腸にかけては、澱粉などの易消化性糖質がほとんど届かない嫌気的な環境であるため、エネルギー源を難消化性糖質の発酵に大きく依存している。近年、腸内細菌から、宿主であるヒトの複合糖質や食物に含まれる多糖を特異的に分解する新規酵素が相次いで発見されている。ビフィズス菌は善玉菌として有名だが本菌が持つ糖質分解酵素には他の細菌にはほとんど見られないユニークな酵素が多く、立体構造の新規性も高いものが多い。ごく最近、乳幼児腸管によく見られる *Bifidobacterium bifidum* から、新規な酵素として、糖質加水分解酵素(GH)ファミリー129 に属する  $\alpha$ -N-アセチルガラクトサミニダーゼ(NagBb)が発見された[1]。NagBb はヒトの消化管に存在する糖タンパク質であるムチンの O-結合糖鎖の根元部分に存在する Tn 抗原(GalNAc  $\alpha$  1-Ser/Thr)を基質とする菌体内酵素である。NagBb は腸管のムチンに多く存在する O-結合糖鎖に対して作用する鍵酵素である。

また NagBb の相同遺伝子は乳幼児から得られるビフィズス菌に共通して存在しており、乳幼児の腸管内への定着において重要な役割を担うと予想されている。本課題では NagBb とその関連酵素の結晶構造解析を行い、それらの基質認識と反応機構に関する構造基盤を明らかにし、その機能について知見を得ることを目的とする。

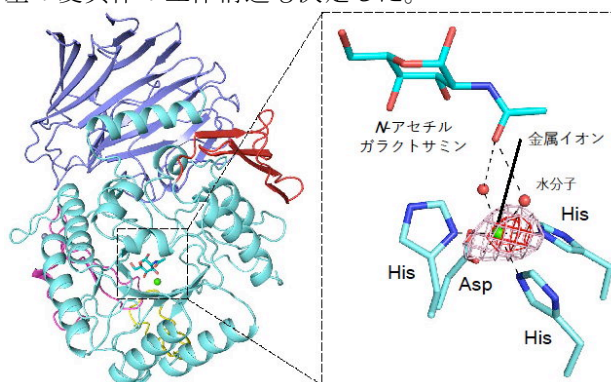
## 2 実験

構造生物学ビームラインを用いて、NagBb の native ligand-free データセット、GalNAc および阻害剤との複合体、金属結合部位の変異体のデータセットを測定した。また、長波長ビームラインである BL-1A にて、S-SAD データおよび長波長データの測定を行った。

## 3 結果および考察

S-SAD 法により位相決定に成功した。また、GalNAc および阻害剤複合体により NagBb の活性中心を特定した。変異体を用いた活性測定も行い、本酵素の反応機構について知見が得られた。さらに、

BL-1A を用いて波長 3 Å 付近の異常分散効果を測定した結果、活性中心付近に見られた金属イオンは  $\text{Ca}^{2+}$  であると推定された。金属イオンを配位する残基の変異体の立体構造も決定した。



図：NagBb の全体構造（左）と活性部位の構造（右）

## 4 まとめ

Sc-Met 置換体の結晶化は再現性が悪かったが、BL-1A を用いることにより、native 結晶を用いて S-SAD 法で位相決定に成功し、長波長測定による金属イオン同定にも成功した。GH129 として初めての立体構造を報告した。

## 謝辞

BL-1A での S-SAD 測定と位相決定を行って下さった山田悠介先生、Dorothee Liebschner 博士、松垣直宏先生、千田俊哉先生をはじめ、実験をサポートして下さいました KEK および PF のみなさんに感謝致します。また、共同研究者の伊藤佑博士、芦田久先生に感謝致します。

## 参考文献

[1] Kiyohara *et al.*, *JBC* **287**, 693 (2012)

## 成果

1. Sato *et al.*, *JBC*, in press (2017)

\* asfushi@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp